Test CEDIA® Cocaïne



IVD **Pour Usage Diagnostique In Vitro**

REF 10016413 (3 x 17 mL Indiko Kit)
100086 (Coffert de 3 x 17 mL)
100095 (Coffert de 65 mL)
1661230 (Coffert de 495 mL)

Application

Le test CEDIA® Cocaïne est un dispositif médical pour usage diagnostique in vitro permettant le dosage qualitatif et semi-quantitatif de métabolites de cocaïne dans l'urine humaine.

Il est nécessaire de confirmer les résultats analytiques obtenus à l'aide d'une méthode chimique alternative de diagnostic plus spécifique. Utiliser alors de préférence la chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (CG/SM).[1] Les résultats de ce test doivent être interprétés en tenant compte du tableau clinique et de l'avis d'un professionnel avant de conclure à l'utilisation d'une drogue toxicomanogène, en particulier si des résultats positifs préliminaires sont utilisés.

Résumé et description du test

La cocaïne (benzoyl-méthyl-ecgonine) est dérivée de l'espèce végétale Erythroxylon coca très répandue en Amérique du Sud.[2-4]

Aux États-Unis, l'usage abusif de la cocaïne est fréquent.[2,3,5] L'abus de cocaïne peut provoquer l'euphorie, l'excitation, la volubilité, la vigilance, l'anxiété, l'insomnie, l'hyperactivité, la paranoïa, une psychose grave et même le suicide.[2,5,6]

La cocaïne est rapidement métabolisée : moins de 5% inchangés sont éliminés par voie urinaire.[3,5,6] Les deux principaux métabolites résultant de l'hydrolyse enzymatique et non-enzymatique sont la benzoylecgonine et l'ester méthylique d'ecgonine.[3,5-8] Les métabolites peuvent être détectés dans l'urine jusqu'à trois semaines après la prise en cas de prise régulière de fortes doses.[9,10]

Le test CEDIA Cocaïne utilise la technologie de l'ADN recombinant (brevet US n° 4708929) et correspond à une méthode immuno-enzymatique en phase homogène unique.[11] Ce test utilise l'enzyme bactérienne β-galactosidase scindée au préalable en deux fragments inactifs par génie génétique. Ces fragments se réassocient spontanément pour former une enzyme pleinement active qui, lors de la réaction, fragmente un substrat, produisant un changement de coloration que l'on peut mesurer par spectrophotométrie.

La drogue contenue dans l'échantillon entre en compétition avec la drogue conjuguée à un des fragments inactifs de la β-galactosidase pour se fixer sur les sites de liaison des anticorps. Si la drogue est présente dans l'échantillon, elle se fixe sur les anticorps, laissant ainsi les fragments inactifs de l'enzyme former une enzyme active. Si l'échantillon ne contient pas de drogue, les anticorps se lient à la drogue conjuguée du segment inactif, entravant la réassociation des fragments inactifs de β-galactosidase, ce qui empêche la formation d'une enzyme active. La quantité d'enzyme active produite et la modification de l'absorbance correspondante sont proportionnelles à la quantité de la drogue dans l'échantillon.

Réactifs

1 **Tampon de reconstitution EA :** Contient de l'acide N-pipérazine, N-bis 2 éthane sulfonique; 0,54 µg/mL anticorps monoclonaux de souris anti-benzoylecgonine; sels tampons, stabilisant et conservateur.
1a **Réactif EA:** Contient 0,171 g/L d'EA, sels tampons, détergent et conservateur.
2 **Tampon de reconstitution ED :** Contient de l'acide N-pipérazine, N-bis 2 éthane sulfonique; sels tampons et conservateur.
2a **Réactif ED:** Contient 15,38 µg/l d'ED conjugué à de la benzoylecgonine, 1,67 g/L de chlorophénol rouge-β-D-galactopyranoside, stabilisant et conservateur.

Matériel supplémentaire: Étiquettes à code-barres de remplacement (nº de réf. 100086 et 100095 seulement. Se référer à la fiche technique spécifique de l'analyseur pour le mode d'emploi). Flacons vides d'analyseur pour le transvasement des solutions EA/ED (nº de réf. 100095). Flacon vide d'analyseur pour le transvasement des solutions ED (nº de réf. 1661230 seulement).

Matériel supplémentaire requis (vendu individuellement):

Étalon négatif CEDIA
Étalon multi-drogues CEDIA, Seuils primaires ou Seuil clinique primaire, (300 ng/mL)
Étalon multi-drogues CEDIA, Seuils secondaires, (150 ng/mL)
Étalon multi-drogues CEDIA, Seuils optionnels, (200 ng/mL)
Étalon multi-drogues CEDIA moyen,
Étalon multi-drogues CEDIA haut,
Série de contrôles pour le dosage de toxicomanogénes dans l'MGC Primary, (300 ng/mL)
Série de contrôles pour le dosage de toxicomanogénes dans l'MGC Clinical, (300 ng/mL)
Série de contrôles pour le dosage de toxicomanogénes dans l' MGC Select, (150 ng/mL)
Série de contrôles pour le dosage de toxicomanogénes dans l' MGC Specialty, (150 ng/mL)

⚠ Avertissements et mises en garde

Les réactifs contiennent de l'azide de sodium. Éviter tout contact avec la peau et les muqueuses. En cas de contact, rincer à grande eau. En cas de projection dans l'œil ou d'ingestion, consulter immédiatement un médecin. L'azide de sodium peut réagir dans les conduites de plomb ou de cuivre et former des azides métalliques explosifs. Pour éliminer les réactifs, il est donc nécessaire de rincer abondamment à l'eau afin d'éviter toute accumulation d'azides. Nettoyer les surfaces métalliques exposées avec de la soude caustique à 10%.

Préparation et conservation des réactifs

Voir ci-dessous la préparation des solutions pour les analyseurs Hitachi. Pour tous les autres analyseurs, se référer à la fiche technique spécifique de chaque appareil. Sortir le kit du réfrigérateur immédiatement avant la préparation des solutions.

Préparer les solutions dans l'ordre ci-dessous afin de réduire le risque d'une éventuelle contamination.

Solution ED R2: Relier le flacon 2a (réactif ED) au flacon 2 (tampon de reconstitution ED) à l'aide de l'un des raccords fournis. Mélanger par retournements lents, en veillant à ce que le lyophilisat du flacon 2a soit entièrement transvasé dans le flacon 2. Éviter la formation de mousse. Détacher du flacon 2 le flacon 2a et le raccord, et les jeter. Reboucher le flacon 2 et le laisser reposer debout pendant environ 5 minutes à température ambiante. Mélanger à nouveau. Inscrire la date de reconstitution sur l'étiquette du flacon.

Solution EA R1: Relier le flacon 1a (réactif EA) au flacon 1 (tampon de reconstitution EA) à l'aide de l'un des raccords fournis. Mélanger par retournements lents, en veillant à ce que le lyophilisat (flacon 1a) soit entièrement transvasé dans le flacon 1. Éviter la formation de mousse. Détacher du flacon 1 le flacon 1a et le raccord, et les jeter. Reboucher le flacon 1 et le laisser reposer debout pendant environ 5 minutes à température ambiante (15 à 25°C). Mélanger à nouveau. Inscrire la date de reconstitution sur l'étiquette du flacon.

Nº de réf. 100095 - Analyseur Hitachi 717, 911, 912 ou 914: Transvaser les réactifs reconstitués dans les flacons vides correspondants de 100 mL R1 et R2 fournis avec le kit. **Hitachi 917/ Modular Analytics P:** Utiliser les réactifs reconstitués sans transvaser les flacons. Jeter les flacons de 100 mL vides.
Nº de réf. 1661230 - Analyseur Hitachi 747/Modular Analytics D: Á l'aide de l'entonnoir fourni, transférer une partie de la solution R2 dans le flacon de solution R2 vide fourni et portant l'étiquette correspondante.

REMARQUE 1: Les composants contenus dans ce kit doivent être utilisés ensemble. Ne pas mélanger de composants provenant de lots différents.
REMARQUE 2: Veiller à ne pas intervertir les bouchons des flacons de réactifs pour éviter toute contamination croisée des réactifs. La solution R2 doit être jaune orangé. Une coloration rouge sombre ou rouge violacé signifie que le réactif est contaminé et doit être éliminé.
REMARQUE 3: Les solutions R1 et R2 doivent être amenées à la température du compartiment de stockage de l'analyseur avant de procéder au test. Se référer à la fiche technique spécifique de l'analyseur pour toute information complémentaire.
REMARQUE 4: Pour assurer la stabilité de la solution EA reconstituée, ne pas l'exposer de façon permanente et prolongée à une lumière vive.

Stocker les réactifs entre 2 et 8°C. **Ne pas congeler.** Pour la stabilité des composants non ouverts, se référer à la date de péremption figurant sur l'étiquetage de la boîte ou des flacons.

Solution R1: 60 jours réfrigérée dans l'analyseur ou entre 2 et 8°C.
Solution R2: 60 jours réfrigérée dans l'analyseur ou entre 2 et 8°C.

Prélèvement et préparation des échantillons

Recueillir les échantillons d'urine dans des récipients propres en verre ou en plastique. Centrifuger les échantillons présentant une forte turbidité avant de les analyser. Tout échantillon d'urine humaine doit être manipulé comme étant potentiellement infectieux. Recueillir et tester un nouvel échantillon si on soupçonne une adultération de l'échantillon d'origine. L'adultération des échantillons d'urine peut affecter les résultats du test.

Tout échantillon qui n'est pas initialement testé dans les 7 jours suivant son arrivée au laboratoire doit être conservé dans un réfrigérateur en milieu fermé, conformément aux *Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs; Final Guidelines; Notice.*[12]

Procédure du test

Pour réaliser ce test, on peut utiliser un analyseur chimique capable de maintenir une température constante, de prélever des échantillons à la pipette, de mélanger des réactifs, de mesurer des taux enzymatiques et d'assurer le minutage de la réaction. Les fiches techniques avec les paramètres spécifiques des instruments sont disponibles auprès de Microgenics, une division de Thermo Fisher Scientific.

Des étiquettes à code-barres supplémentaires sont fournies pour une détermination semi-quantitative avec les kits de 17 et de 65 mL seulement. Pour les utiliser, recouvrir l'étiquette de chaque flacon de celle qui convient.

Contrôle qualité et étalonnage[13]

Analyse qualitative

Pour réaliser une analyse d'échantillons qualitative, utiliser l'étalon multi-drogues, Seuils primaires, Seuils cliniques primaires, Seuils optionnels ou Seuils secondaires (en fonction du seuil choisi) pour analyser les résultats. Se référer à la fiche technique spécifique de chaque appareil.

Analyse semi-quantitative

Pour réaliser une analyse d'échantillons semi-quantitative, utiliser l'étalon multi-drogues, Seuils primaires, Seuils cliniques primaires, Seuils optionnels ou Seuils secondaires (en fonction du seuil choisi) en conjonction avec l'étalon négatif et les étalons multi-drogues moyen et haut pour analyser les résultats.

Il est important de prévoir la vérification quotidienne des échantillons de patients et de l'étalonnage effectué à l'aide d'échantillons de contrôle. Il est recommandé d'effectuer deux contrôles de qualité: l'un de 25% supérieur au seuil sélectionné, l'autre de 25% inférieur au seuil sélectionné. Utiliser le groupe de témoins multi-drogues, le groupe de témoins cliniques, le groupe de témoins optionnels (seuil de 300 ng) ou le groupe de témoins spéciaux (seuil de 150 ng) CEDIA pour le contrôle qualité. L'appareil doit être recalibré à chaque changement de réactifs et en cas d'écart dans les valeurs de contrôle. La fréquence des contrôles doit être déterminée par le laboratoire. L'évaluation du contrôle qualité doit se baser sur les valeurs obtenues par les témoins, elles doivent se situer dans les limites spécifiées. En cas de détection d'une tendance à la hausse ou à la baisse ou de décalages soudains, vérifier tous les paramètres de fonctionnement. Pour plus de renseignements, s'adresser au service technique Microgenics. Toutes les exigences de contrôle qualité doivent être appliquées conformément aux règlements locaux, régionaux et nationaux ou aux conditions d'agrément.

Résultats et valeurs attendus

Résultats qualitatifs

L'étalon multi-drogues, Seuils primaire ou secondaire (en fonction du seuil choisi), sert de référence pour différencier les échantillons positifs des échantillons négatifs. Les échantillons générant une réponse dont la valeur est égale ou supérieure à celle de l'étalon sont considérés comme positifs. Les échantillons dont le résultat est inférieur à celui de l'étalon sont considérés comme négatifs. Se référer à la fiche technique spécifique de l'analyseur pour toute information complémentaire.

Résultats semi-quantitatifs

L'étalon multi-drogues, Seuils primaires, Seuils cliniques primaires, Seuils optionnels ou Seuils secondaires, utilisé en conjonction avec l'étalon négatif et les étalons multi-drogues moyen et haut, peut être utilisé pour estimer la concentration relative de métabolites de cocaïne. Se référer à la fiche technique spécifique à l'analyseur pour obtenir des informations détaillées.

Les résultats de concentration doivent être rapportés avec prudence car de nombreux autres facteurs sont susceptibles de fausser les résultats d'un test urinaire, tels que l'apport hydrique et autres facteurs biologiques.

Limitations

1. Un résultat positif au test indique la présence de métabolites de cocaïne dans l'échantillon; il n'indique ni ne mesure une intoxication.
2. D'autres substances et/ou facteurs non répertoriées peuvent perturber le test et provoquer des résultats erronés (erreurs techniques ou de procédure).

Performances spécifiques

Les résultats de performance effectifs indiqués ci-dessous ont été obtenus avec un analyseur Hitachi 717.[14] Les résultats obtenus dans un laboratoire peuvent être différents de ces données.

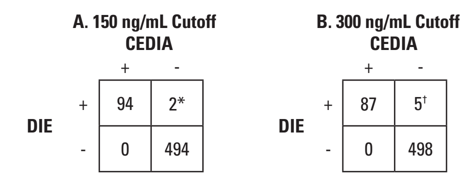
Précision

La précision de mesure a été étudiée avec un analyseur Hitachi 717 en utilisant les réactifs et les étalons fournis dans le conditionnement et en suivant un protocole de réplication modifié NCCLS. Les résultats ci-dessous en mA/mn ont été obtenus.

	Précision dans la série				Précision totale			
ng/mL	150	225	300	375	150	225	300	375
n	120	120	120	120	120	120	120	120
$\bar{x}$	292,6	333,4	363,6	387,3	292,6	333,4	363,6	387,3
SD	4,15	3,36	3,32	3,21	13,6	8,91	9,69	10,47
%CV	1,4	1,0	0,9	0,8	4,7	2,7	2,7	2,7

Exactitude

590 échantillons d'urine ont été testés avec le test CEDIA Cocaïne sur l'analyseur Hitachi 717 et avec un dosage immuno-enzymatique (DIE) pour le métabolite de la cocaïne disponible dans le commerce. Les résultats suivants ont été obtenus:



A. 150 ng/mL Cutoff — CEDIA

		CEDIA +	CEDIA -
DIE	+	94	2*
	-	0	494

B. 300 ng/mL Cutoff — CEDIA

		CEDIA +	CEDIA -
DIE	+	87	5†
	-	0	498

* Les échantillons ont été testés par CPG/SM et contenaient entre 22 et 94 ng/mL de benzoylecgonine.
† Les 5 échantillons ont été testés par CPG/SM. Les échantillons ont été testés par CG/SM et contenaient 22-101 ng/mL de benzoylecgonine. Le cinquième contenait 169 ng/mL de benzoylecgonine.

Spécificité

Lorsque les molécules mères et les métabolites suivants ont été soumis au test CEDIA Cocaïne, avec un protocole utilisant un seuil de 300 ng/mL, ils ont donné les résultats (%) de réactivité croisée suivants:

Substance	Concentrations Testées (ng/mL)	Réactions Croisées %
Benzoylecgonine	300	100
Cocaéthyléne	312	57
Cocaïne	315	54
Ecgonine	10.000	1,1
Ester méthylique d'ecgonine	10.000	< 0,1

Des composés à structure non apparentée, soumis au test CEDIA Cocaïne à un protocole utilisant un seuil de 300 ng/mL ont donné un résultat négatif aux concentrations énumérées ci-dessous.

Substance	ng/mL	Substance	ng/mL
Acide acétylsalicylique	500.000	Lévothyroxine (T4)	50.000
Acide salicylurique	500.000	Méthadone	500.000
Amoxicilline	100.000	Méthamphétamine	500.000
Amphétamine	500.000	Morphine	100.000
Captopril	500.000	Nifédipine	500.000
Chlordiazépoxide	100.000	Phencyclidine	500.000
Cimétidine	500.000	Phénobarbital	500.000
Codéin	500.000	Propoxyphéne	500.000
Diazépam	500.000	Ranitidine	500.000
Digoxine	100.000	Salicylursäure	500.000
Enalapril	500.000	Sécobarbital	500.000
Fluoxétine	500.000	11-nor-Δ^9-THC-COOH	10.000
Ibuproféne	500.000	Vérapamil	500.000

Aucune interférence n'a été observée lorsque les substances suivantes ont été ajoutées aux concentrations endogènes normales trouvées dans les urines soumises au test CEDIA Cocaïne:

Substance	Concentration	Substance	Concentration
Acétone	≤ 1,0 g/dL	γ-globuline	≤ 0,5 g/dL
Acide ascorbique	≤ 0,15 g/dL	Glucose	≤ 1,5 g/dL
Acide oxalique	≤ 0,1 g/dL	Hémoglobine	≤ 0,3 g/dL
Chlorure de sodium	≤ 6,0 g/dL	Riboflavine	≤ 7,5 mg/dL
Créatinine	≤ 0,5 g/dL	Séralbumine humaine	≤ 0,5 g/dL
Ethanol	≤ 1,0 g/dL	Urée	≤ 2,0 g/dL
Galactose	≤ 10 mg/dL		

Sensibilité

Pour l'analyse qualitative, la limite de détection se situait à 6 ng/mL et à 13 ng/mL pour les protocoles utilisant un seuil de 150 ng/mL et 300 ng/mL, respectivement.

Pour l'analyse semi-quantitative, la limite de détection se situait à 13,2 ng/mL et à 19,5 ng/mL pour les protocoles utilisant un seuil de 150 ng/mL et de 300 ng/mL, respectivement.

Bibliographie

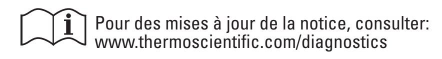
1. Hawks RL. Analytical methodology. In: Hawks, RL,Chiang, CN, eds. Urine Testing for Drugs of Abuse. NIDA Research Monograph 1986, 73: 30-41.
2. Gawin FH, Ellinwood EH Jr. Cocaine and other stimulants: Actions, abuse, and treatment. N. Engl. J. Med. 1988, 318: 1173-1182.
3. Jatlow, Pl. Drugs of abuse profile: Cocaine. Clin. Chem. 1987, 33(suppl): 66B-71B.
4. Bouknight LG, Bouknight RR. Cocaine - A particularly addictive drug. Postgrad. Med.1988; 83: 115-124,131.
5. Benowitz, NL, Clinical pharmacology and toxicology of cocaine. Pharmacol. & Toxicol.1993; 72: 3-12.
6. Jones RT. The pharmacology of cocaine. In: Grabowski, J. ed. Cocaine: Pharmacology, Effects and Treatment of Abuse. NIDA Research Monograph. 1984; 50: 34-53.
7. Ambre J. Urinary excretion of cocaine and metabolites in humans: A kinetic analysis of published data. J. Anal. Toxicol. 1985; 9: 241-245.
8. Ambre J, Ruo Tl, Nelson J, Belknap S. Urinary excretion of cocaine, benzoylecgonine and ecgonine methyl ester in humans. J. Anal. Toxicol. 1988; 12: 301-306.
9. Weiss RD. Gawin, FH. Protracted elimination of cocaine metabolites in long-term, high-dose cocaine abusers. Am. J. Med. 1988, 85: 879-880.
10. Burke WM, et al. Prolonged presence of metabolite in urine after compulsive cocaine use. J. Clin. Psychiatry. 1990; 51:145-148.
11. Henderson DR, Friedman SB, Harris JD et al. CEDIA®, a new homogeneous immunoassay system. Clin. Chem. 1986; 32: 1637-1641.
12 Notice of Mandatory Guidelines For Federal Workplace Drug Testing Program: Final Guidelines, Federal Register. 1994; 110 (June 9): 11983. (Directives révisées prévues en 2002).
13. Les données de traçabilité sont conservées par Microgenics Corporation, une division de Thermo Fisher Scientific.
14. Données conservées par Microgenics Corporation, une division de Thermo Fisher Scientific.



Microgenics Corporation
46360 Fremont Blvd.
Fremont, CA 94538-6406 États-Unis
Soutien client et technique
aux États-Unis :
1-800-232-3342



EC REP
Thermo Fisher Scientific Oy
Ratastie 2, P.O. Box 100
01621 Vantaa, Finland
Tel: +358-9-329100
Fax: +358-9-32910300



Autres pays:
Contacter le représentant local Thermo Fisher Scientific.

10006475-2_FR
2012 07

